

## こめ油の $\gamma$ -オリザノール分子種の分析 こめ油関 連食品やその他の穀物への展開

著者	澤田 一恵
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第19910号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00132159">http://hdl.handle.net/10097/00132159</a>

## 論文内容要旨

こめ油の $\gamma$ -オリザノール分子種の分析  
—こめ油関連食品やその他の穀物への展開—

東北大学大学院農学研究科

生物産業創成科学専攻

澤 田 一 恵

指導教員

仲川 清隆 教授

## 緒言

$\gamma$ -オリザノール (OZ) は約 60 年前に米糠から単離・同定され [1], イネの学名「*Oryza sativa* L.」と構造中に水酸基を持つことから oryzanol と命名された [2]. OZ は, 種々のトリテルペンアルコールまたは植物ステロールのフェルラ酸エステル体から構成されており, 米糠にはシクロアルテニルフェルレート (CA-FA), 24-メチレンシクロアルタニルフェルレート (24MCA-FA), カンペステリルフェルレート (Camp-FA), および  $\beta$ -シトステリルフェルレート (Sito-FA) の 4 種が主要な分子種として豊富に含まれている [3] (Fig. 1). OZ は, 脂質低下作用 [4], 抗酸化作用 [5], 抗炎症作用 [6], 脳機能改善作用 [7] などの多くの有益な作用が報告されている. 一方で, 近年, OZ 分子種はそれぞれに特有の機能性を有することが見出され [8, 9], OZ 分子種の化学構造と生理活性との関係性を明らかにすることの重要性が示唆されている.

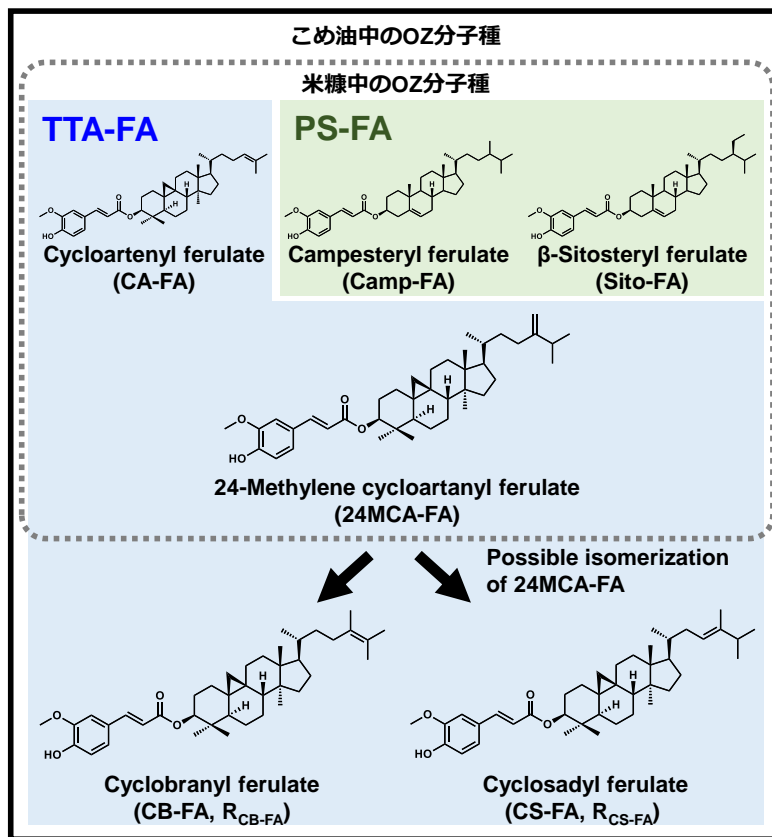


Fig.1 米糠およびこめ油中の OZ 分子種の構造

最新の筆者らの研究において, 高速液体クロマトグラフィー質量分析計 (HPLC-MS) にて市販のこめ油を測定すると, 上記の米糠の主要 4 分子種以外に 2 つの OZ 分子種が主要な分子種としてこめ油に存在する可能性が示された [10, 11]. 上述したように, OZ は分子種毎に特有の機能を有する可能性が示唆されることから, こめ油中の OZ の機能性を詳細かつ正確に評価するためには, 分子種の化学構造を明らかにし, それぞれを分

析できる方法が必要である。

そこで、本研究ではこめ油中の OZ 分子種を明らかにするため、こめ油中に検出された新規 OZ 分子種と推定される 2 つの化合物について、トリテルペンアルコールの酸処理に関する知見 [12] から以下の仮説を設定した。すなわち、米原油（米糠のヘキサン抽出物）からこめ油を製造する工程において、OZ（おそらく 24MCA-FA）のステロール骨格部の側鎖の二重結合が異性化し、フェルラ酸シクロブラニル（CB-FA）とフェルラ酸シクロサディル（CS-FA）と推定される分子種に異性化するというものである（Fig. 1）。本仮説を証明するために、こめ油から 2 つの OZ 推定物を単離して構造決定を試みた。一方、OZ 分子種の分析法としては、一般的には HPLC-MS や HPLC-UV や用いられるが、新規 OZ 推定物（CB-FA と CS-FA）を含めたこめ油の OZ 分子種を測定した報告は筆者の知る限り、筆者らの HPLC-MS 法以外にはない [10, 11, 13]。高価な装置や安定した測定に技術を要する HPLC-MS 法よりも HPLC-UV 法の方がより汎用的であるため、HPLC-UV 法にてこめ油中の主要な OZ 分子種を定量できる分析法の開発に取り組んだ。そして、本法を用いて OZ が酸によって異性化するとした上記の仮説の検証を行った。他方、OZ を構成するいくつかの分子種（24MCA-FA, Camp-FA, Sito-FA など）は、コメ以外にも小麦、大麦、トウモロコシなどの穀物にも存在することが報告されている [14-17]。しかし、新規 OZ 推定物を含めたこめ油の OZ 分子種あるいは類似構造の化合物（例えば、フェルラ酸以外のフェノール酸エステル体、等）が種々の穀物中に存在するのかは明らかではない。そこで種々の穀物試料を測定し、食品に含まれる可能性がある OZ 分子種および OZ の類似構造化合物を明らかにすることを目指した。

## 第一章 こめ油の $\gamma$ -オリザノール分子種の解析

### 第一節 こめ油に特有の $\gamma$ -オリザノールの構造解明

【背景・目的】こめ油に検出された2つの化合物を  $R_{CB-FA}$  および  $R_{CS-FA}$  と称し (Fig. 1), まず数種類の品種の米原油 (こめ油の原料, 米糠のヘキサン抽出物.) を分析することにより,  $R_{CB-FA}$  および  $R_{CS-FA}$  はこめ油に特有なのかを検証した. 次いで, こめ油中の  $R_{CB-FA}$  および  $R_{CS-FA}$  を構造決定するにあたり, 共通骨格を有する米糠の 24MCA-FA の構造情報を参考にすることを計画した. しかし, 米糠 OZ の主要な分子種として, 古くから知られ研究対象となっている 24MCA-FA でさえ完全な構造決定がなされていなかったため, 24MCA-FA を単離して化学構造を決定し, その構造情報を参考に  $R_{CB-FA}$  および  $R_{CS-FA}$  の構造決定を行った. さらに, こめ油の OZ 分子種を日常的に食品から摂取している可能性について検討した.

【方法】5 品種の米原油を HPLC-UV-MS (IT-TOF; イオントラップ-飛行時間型 MS) にて測定した. 24MCA-FA は, 市販の米糠由来 OZ から再結晶とフラッシュクロマトグラフィーによる精製にて単離し, HPLC-UV-MS (IT-TOF) 測定, NMR 測定, X 線結晶構造解析を行った.  $R_{CB-FA}$  および  $R_{CS-FA}$  は, OZ 高含有こめ油から溶媒抽出とフラッシュクロマトグラフィーにより OZ 画分を調製し, HPLC-UV によりそれぞれを単離した後, NMR を測定し化学構造を決定した. 上記により構造決定した  $R_{CB-FA}$  および  $R_{CS-FA}$  に加え, 米糠の主要な 4 分子種を標品に使用し, 市販のこめ油 6 種とこめ油を使用した加工食品 (ポテトチップスと米菓) の脂質を HPLC-UV-MS (IT-TOF) にて分析した.

【結果と考察】5 品種の米原油中の主要な OZ 分子種は従来の報告のとおり 4 種であり, こめ油に検出された  $R_{CB-FA}$  および  $R_{CS-FA}$  はほとんど検出されなかった. 従って,  $R_{CB-FA}$  および  $R_{CS-FA}$  はこめ油に特有のものと推定された. 米糠由来 OZ から単離した 24MCA-FA の化学構造を完全に決定し [18], 本データを元に OZ 高含有こめ油から単離した  $R_{CB-FA}$  および  $R_{CS-FA}$  の  $^1H$  および  $^{13}C$  NMR スペクトルを帰属した (Fig. 2) [19]. 以上の結果から,  $R_{CB-FA}$  および  $R_{CS-FA}$  はそれぞれ CB-FA および CS-FA であることが明らかとなった. 続いて, 数種類の市販のこめ油とこめ油を使用した加工食品中の OZ 分子種を分析することで, 我々が摂取するこめ油の OZ 分子種について評価し得ると推察した. HPLC-UV-MS (IT-TOF) を用いて測定した, 市販のこめ油および加工食品の脂質中の各 OZ 分子種の含量および組成を Table. 1 に示す. 市販のこめ油 6 種すべてに, 米糠の OZ4 分子種に加え CB-FA および CS-FA は含まれていた. また, 加工食品の OZ 含量および分子種組成はこめ油と大きく変わらないことが明らかとなった. 以上により, おそらく我々は日常的にこれらの OZ 分子種を食事から摂取しているものと推定された.

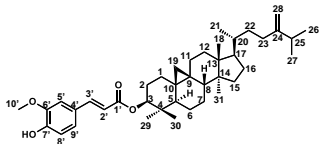
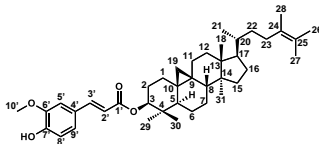
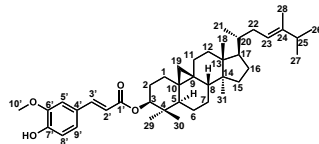
																																																																																																																																																																																																																																																																																																															
<b>24MCA-FA</b>	<b>R<sub>CB</sub>-FA (CB-FA)</b>	<b>R<sub>CS</sub>-FA (CS-FA)</b>																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
<table><tr><th>Position</th><th><math>\delta_c</math></th><th><math>\delta_{\alpha}</math> (J/m Hz)</th></tr><tr><td>1</td><td>31.6</td><td>1.68, m ; 1.29, m</td></tr><tr><td>2</td><td>26.9</td><td>1.84, m ; 1.68, m</td></tr><tr><td>3</td><td>80.5</td><td>4.72, dd (10.8, 4.8)</td></tr><tr><td>4</td><td>39.7</td><td>-</td></tr><tr><td>5</td><td>47.2</td><td>1.45, dd (16.2, 4.2)</td></tr><tr><td>6</td><td>20.9</td><td>1.60, m ; 0.82, dq (12.6, 2.4)</td></tr><tr><td>7</td><td>25.8</td><td>1.34, m ; 1.10, m</td></tr><tr><td>8</td><td>47.9</td><td>1.53, dd (12.8, 4.8)</td></tr><tr><td>9</td><td>20.1</td><td>-</td></tr><tr><td>10</td><td>26.0</td><td>-</td></tr><tr><td>11</td><td>26.5</td><td>2.01, dt (15.0, 8.4) ; 1.15, m</td></tr><tr><td>12</td><td>32.8</td><td>1.63, t (7.8)</td></tr><tr><td>13</td><td>45.3</td><td>-</td></tr><tr><td>14</td><td>48.8</td><td>-</td></tr><tr><td>15</td><td>35.5</td><td>1.30, m</td></tr><tr><td>16</td><td>28.2</td><td>1.93, m ; 1.30, m</td></tr><tr><td>17</td><td>52.2</td><td>1.62, m</td></tr><tr><td>18</td><td>18.0</td><td>0.98, s</td></tr><tr><td>19</td><td>29.8</td><td>0.60, d (3.9) ; 0.37, d (3.9)</td></tr><tr><td>20</td><td>36.1</td><td>1.40, m</td></tr><tr><td>21</td><td>18.3</td><td>0.90, d (6.0)</td></tr><tr><td>22</td><td>34.9</td><td>1.58, m ; 1.14, m</td></tr><tr><td>23</td><td>31.3</td><td>2.13, ddd (14.4, 11.7, 4.5) ; 1.89, m</td></tr><tr><td>24</td><td>156.9</td><td>-</td></tr><tr><td>25</td><td>33.8</td><td>2.24, sep (7.2)</td></tr><tr><td>26</td><td>22.0 or 21.9</td><td>1.04, d (7.2) or 1.03, d (7.2)</td></tr><tr><td>27</td><td>22.0 or 21.9</td><td>1.04, d (7.2) or 1.03, d (7.2)</td></tr><tr><td>28</td><td>105.9</td><td>4.72 and 4.67, brs</td></tr><tr><td>29</td><td>25.5</td><td>0.90, s</td></tr><tr><td>30</td><td>15.4</td><td>0.98, s</td></tr><tr><td>31</td><td>19.3</td><td>0.92, s</td></tr><tr><td>1'</td><td>167.1</td><td>-</td></tr><tr><td>2'</td><td>116.3</td><td>6.30, d (15.9)</td></tr><tr><td>3'</td><td>144.3</td><td>7.60, d (15.9)</td></tr><tr><td>4'</td><td>127.1</td><td>-</td></tr><tr><td>5'</td><td>109.2</td><td>7.05, d (1.8)</td></tr><tr><td>6'</td><td>146.7</td><td>-</td></tr><tr><td>7'</td><td>147.8</td><td>-</td></tr><tr><td>8'</td><td>114.6</td><td>6.92, d (8.4)</td></tr><tr><td>9'</td><td>123.0</td><td>7.08, dd (8.4, 1.8)</td></tr><tr><td>10'</td><td>56.0</td><td>3.94, s</td></tr><tr><td>OH</td><td>-</td><td>5.84, s</td></tr></table>	Position	$\delta_c$	$\delta_{\alpha}$ (J/m Hz)	1	31.6	1.68, m ; 1.29, m	2	26.9	1.84, m ; 1.68, m	3	80.5	4.72, dd (10.8, 4.8)	4	39.7	-	5	47.2	1.45, dd (16.2, 4.2)	6	20.9	1.60, m ; 0.82, dq (12.6, 2.4)	7	25.8	1.34, m ; 1.10, m	8	47.9	1.53, dd (12.8, 4.8)	9	20.1	-	10	26.0	-	11	26.5	2.01, dt (15.0, 8.4) ; 1.15, m	12	32.8	1.63, t (7.8)	13	45.3	-	14	48.8	-	15	35.5	1.30, m	16	28.2	1.93, m ; 1.30, m	17	52.2	1.62, m	18	18.0	0.98, s	19	29.8	0.60, d (3.9) ; 0.37, d (3.9)	20	36.1	1.40, m	21	18.3	0.90, d (6.0)	22	34.9	1.58, m ; 1.14, m	23	31.3	2.13, ddd (14.4, 11.7, 4.5) ; 1.89, m	24	156.9	-	25	33.8	2.24, sep (7.2)	26	22.0 or 21.9	1.04, d (7.2) or 1.03, d (7.2)	27	22.0 or 21.9	1.04, d (7.2) or 1.03, d (7.2)	28	105.9	4.72 and 4.67, brs	29	25.5	0.90, s	30	15.4	0.98, s	31	19.3	0.92, s	1'	167.1	-	2'	116.3	6.30, d (15.9)	3'	144.3	7.60, d (15.9)	4'	127.1	-	5'	109.2	7.05, d (1.8)	6'	146.7	-	7'	147.8	-	8'	114.6	6.92, d (8.4)	9'	123.0	7.08, dd (8.4, 1.8)	10'	56.0	3.94, s	OH	-	5.84, s	<table><tr><th><math>\delta_c</math></th><th><math>\delta_{\alpha}</math> (J/m Hz)</th></tr><tr><td>31.6</td><td>1.67, m ; 1.29, m</td></tr><tr><td>27.0</td><td>1.84, m ; 1.67, m</td></tr><tr><td>80.5</td><td>4.71, dd (11.1, 5.1)</td></tr><tr><td>39.7</td><td>-</td></tr><tr><td>47.2</td><td>1.44, dd (18.6, 4.2)</td></tr><tr><td>21.0</td><td>1.60, m ; 0.82, m</td></tr><tr><td>25.8</td><td>1.34, m ; 1.11, m</td></tr><tr><td>47.9</td><td>1.53, dd (12.0, 4.8)</td></tr><tr><td>20.2</td><td>-</td></tr><tr><td>26.0</td><td>-</td></tr><tr><td>26.5</td><td>2.01, dt (15.0, 8.4) ; 1.15, m</td></tr><tr><td>32.8</td><td>1.62, m</td></tr><tr><td>45.3</td><td>-</td></tr><tr><td>48.8</td><td>-</td></tr><tr><td>35.5</td><td>1.30, m</td></tr><tr><td>28.1</td><td>1.93, m ; 1.30, m</td></tr><tr><td>52.1</td><td>1.61, m</td></tr><tr><td>18.0</td><td>0.98, s</td></tr><tr><td>29.8</td><td>0.60, d (3.9) ; 0.37, d (3.9)</td></tr><tr><td>36.3</td><td>1.36, m</td></tr><tr><td>18.4</td><td>0.91, d (6.0)</td></tr><tr><td>34.6</td><td>1.44, m ; 1.05, m</td></tr><tr><td>31.4</td><td>2.06, m ; 1.89, m</td></tr><tr><td>128.4</td><td>-</td></tr><tr><td>123.3</td><td>-</td></tr><tr><td>20.6 or 20.0</td><td>1.64 or 1.63, s</td></tr><tr><td>20.6 or 20.0</td><td>1.64 or 1.63, s</td></tr><tr><td>18.5</td><td>1.63, s</td></tr><tr><td>25.5</td><td>0.90, s</td></tr><tr><td>15.4</td><td>0.98, s</td></tr><tr><td>19.3</td><td>0.91, s</td></tr><tr><td>167.1</td><td>-</td></tr><tr><td>116.3</td><td>6.30, d (15.6)</td></tr><tr><td>144.3</td><td>7.60, d (15.6)</td></tr><tr><td>127.1</td><td>-</td></tr><tr><td>109.2</td><td>7.05, d (1.8)</td></tr><tr><td>146.7</td><td>-</td></tr><tr><td>147.8</td><td>-</td></tr><tr><td>114.6</td><td>6.92, d (8.4)</td></tr><tr><td>123.1</td><td>7.08, dd (8.4, 1.8)</td></tr><tr><td>56.0</td><td>3.94, s</td></tr><tr><td>-</td><td>5.84, s</td></tr></table>	$\delta_c$	$\delta_{\alpha}$ (J/m Hz)	31.6	1.67, m ; 1.29, m	27.0	1.84, m ; 1.67, m	80.5	4.71, dd (11.1, 5.1)	39.7	-	47.2	1.44, dd (18.6, 4.2)	21.0	1.60, m ; 0.82, m	25.8	1.34, m ; 1.11, m	47.9	1.53, dd (12.0, 4.8)	20.2	-	26.0	-	26.5	2.01, dt (15.0, 8.4) ; 1.15, m	32.8	1.62, m	45.3	-	48.8	-	35.5	1.30, m	28.1	1.93, m ; 1.30, m	52.1	1.61, m	18.0	0.98, s	29.8	0.60, d (3.9) ; 0.37, d (3.9)	36.3	1.36, m	18.4	0.91, d (6.0)	34.6	1.44, m ; 1.05, m	31.4	2.06, m ; 1.89, m	128.4	-	123.3	-	20.6 or 20.0	1.64 or 1.63, s	20.6 or 20.0	1.64 or 1.63, s	18.5	1.63, s	25.5	0.90, s	15.4	0.98, s	19.3	0.91, s	167.1	-	116.3	6.30, d (15.6)	144.3	7.60, d (15.6)	127.1	-	109.2	7.05, d (1.8)	146.7	-	147.8	-	114.6	6.92, d (8.4)	123.1	7.08, dd (8.4, 1.8)	56.0	3.94, s	-	5.84, s	<table><tr><th><math>\delta_c</math></th><th><math>\delta_{\alpha}</math> (J/m Hz)</th></tr><tr><td>31.6</td><td>1.67, m ; 1.29, m</td></tr><tr><td>27.0</td><td>1.84, m ; 1.68, m</td></tr><tr><td>80.5</td><td>4.72, dd (10.8, 4.8)</td></tr><tr><td>39.7</td><td>-</td></tr><tr><td>47.2</td><td>1.45, dd (12.3, 4.5)</td></tr><tr><td>21.0</td><td>1.60, m ; 0.82, m</td></tr><tr><td>25.8</td><td>1.35, m ; 1.10, m</td></tr><tr><td>47.9</td><td>1.53, dd (12.0, 4.8)</td></tr><tr><td>20.2</td><td>-</td></tr><tr><td>26.0</td><td>-</td></tr><tr><td>26.5</td><td>2.00, dt (15.0, 8.3) ; 1.14, m</td></tr><tr><td>32.7</td><td>1.63, t (8.3)</td></tr><tr><td>45.3</td><td>-</td></tr><tr><td>48.8</td><td>-</td></tr><tr><td>35.6</td><td>1.31, m</td></tr><tr><td>28.2</td><td>1.93, m ; 1.32, m</td></tr><tr><td>52.4</td><td>1.59, m</td></tr><tr><td>18.0</td><td>0.98, s</td></tr><tr><td>29.8</td><td>0.60, d (3.9) ; 0.37, d (3.9)</td></tr><tr><td>37.2</td><td>1.42, m</td></tr><tr><td>18.3</td><td>0.84, d (6.6)</td></tr><tr><td>34.4</td><td>2.09, m ; 1.71, m</td></tr><tr><td>120.9</td><td>5.16, t (7.5)</td></tr><tr><td>141.4</td><td>-</td></tr><tr><td>37.0</td><td>2.24, sep (6.9)</td></tr><tr><td>21.6 or 21.6</td><td>0.99, d (6.9)</td></tr><tr><td>21.6 or 21.6</td><td>0.99, d (6.9)</td></tr><tr><td>13.5</td><td>1.55, s</td></tr><tr><td>25.5</td><td>0.90, s</td></tr><tr><td>15.3</td><td>0.98, s</td></tr><tr><td>19.3</td><td>0.91, s</td></tr><tr><td>167.1</td><td>-</td></tr><tr><td>116.3</td><td>6.30, d (15.9)</td></tr><tr><td>144.3</td><td>7.60, d (15.9)</td></tr><tr><td>127.1</td><td>-</td></tr><tr><td>109.2</td><td>7.05, d (1.8)</td></tr><tr><td>146.7</td><td>-</td></tr><tr><td>147.8</td><td>-</td></tr><tr><td>114.6</td><td>6.92, d (8.4)</td></tr><tr><td>123.1</td><td>7.08, dd (8.4, 1.8)</td></tr><tr><td>56.0</td><td>3.94, s</td></tr><tr><td>-</td><td>5.83, s</td></tr></table>	$\delta_c$	$\delta_{\alpha}$ (J/m Hz)	31.6	1.67, m ; 1.29, m	27.0	1.84, m ; 1.68, m	80.5	4.72, dd (10.8, 4.8)	39.7	-	47.2	1.45, dd (12.3, 4.5)	21.0	1.60, m ; 0.82, m	25.8	1.35, m ; 1.10, m	47.9	1.53, dd (12.0, 4.8)	20.2	-	26.0	-	26.5	2.00, dt (15.0, 8.3) ; 1.14, m	32.7	1.63, t (8.3)	45.3	-	48.8	-	35.6	1.31, m	28.2	1.93, m ; 1.32, m	52.4	1.59, m	18.0	0.98, s	29.8	0.60, d (3.9) ; 0.37, d (3.9)	37.2	1.42, m	18.3	0.84, d (6.6)	34.4	2.09, m ; 1.71, m	120.9	5.16, t (7.5)	141.4	-	37.0	2.24, sep (6.9)	21.6 or 21.6	0.99, d (6.9)	21.6 or 21.6	0.99, d (6.9)	13.5	1.55, s	25.5	0.90, s	15.3	0.98, s	19.3	0.91, s	167.1	-	116.3	6.30, d (15.9)	144.3	7.60, d (15.9)	127.1	-	109.2	7.05, d (1.8)	146.7	-	147.8	-	114.6	6.92, d (8.4)	123.1	7.08, dd (8.4, 1.8)	56.0	3.94, s	-	5.83, s
Position	$\delta_c$	$\delta_{\alpha}$ (J/m Hz)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
1	31.6	1.68, m ; 1.29, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
2	26.9	1.84, m ; 1.68, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
3	80.5	4.72, dd (10.8, 4.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
4	39.7	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
5	47.2	1.45, dd (16.2, 4.2)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
6	20.9	1.60, m ; 0.82, dq (12.6, 2.4)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
7	25.8	1.34, m ; 1.10, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
8	47.9	1.53, dd (12.8, 4.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
9	20.1	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
10	26.0	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
11	26.5	2.01, dt (15.0, 8.4) ; 1.15, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
12	32.8	1.63, t (7.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
13	45.3	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
14	48.8	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
15	35.5	1.30, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
16	28.2	1.93, m ; 1.30, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
17	52.2	1.62, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
18	18.0	0.98, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
19	29.8	0.60, d (3.9) ; 0.37, d (3.9)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
20	36.1	1.40, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
21	18.3	0.90, d (6.0)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
22	34.9	1.58, m ; 1.14, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
23	31.3	2.13, ddd (14.4, 11.7, 4.5) ; 1.89, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
24	156.9	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
25	33.8	2.24, sep (7.2)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
26	22.0 or 21.9	1.04, d (7.2) or 1.03, d (7.2)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
27	22.0 or 21.9	1.04, d (7.2) or 1.03, d (7.2)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
28	105.9	4.72 and 4.67, brs																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
29	25.5	0.90, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
30	15.4	0.98, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
31	19.3	0.92, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
1'	167.1	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
2'	116.3	6.30, d (15.9)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
3'	144.3	7.60, d (15.9)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
4'	127.1	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
5'	109.2	7.05, d (1.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
6'	146.7	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
7'	147.8	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
8'	114.6	6.92, d (8.4)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
9'	123.0	7.08, dd (8.4, 1.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
10'	56.0	3.94, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
OH	-	5.84, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
$\delta_c$	$\delta_{\alpha}$ (J/m Hz)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
31.6	1.67, m ; 1.29, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
27.0	1.84, m ; 1.67, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
80.5	4.71, dd (11.1, 5.1)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
39.7	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
47.2	1.44, dd (18.6, 4.2)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
21.0	1.60, m ; 0.82, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
25.8	1.34, m ; 1.11, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
47.9	1.53, dd (12.0, 4.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
20.2	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
26.0	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
26.5	2.01, dt (15.0, 8.4) ; 1.15, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
32.8	1.62, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
45.3	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
48.8	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
35.5	1.30, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
28.1	1.93, m ; 1.30, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
52.1	1.61, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
18.0	0.98, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
29.8	0.60, d (3.9) ; 0.37, d (3.9)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
36.3	1.36, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
18.4	0.91, d (6.0)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
34.6	1.44, m ; 1.05, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
31.4	2.06, m ; 1.89, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
128.4	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
123.3	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
20.6 or 20.0	1.64 or 1.63, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
20.6 or 20.0	1.64 or 1.63, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
18.5	1.63, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
25.5	0.90, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
15.4	0.98, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
19.3	0.91, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
167.1	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
116.3	6.30, d (15.6)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
144.3	7.60, d (15.6)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
127.1	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
109.2	7.05, d (1.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
146.7	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
147.8	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
114.6	6.92, d (8.4)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
123.1	7.08, dd (8.4, 1.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
56.0	3.94, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
-	5.84, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
$\delta_c$	$\delta_{\alpha}$ (J/m Hz)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
31.6	1.67, m ; 1.29, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
27.0	1.84, m ; 1.68, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
80.5	4.72, dd (10.8, 4.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
39.7	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
47.2	1.45, dd (12.3, 4.5)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
21.0	1.60, m ; 0.82, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
25.8	1.35, m ; 1.10, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
47.9	1.53, dd (12.0, 4.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
20.2	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
26.0	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
26.5	2.00, dt (15.0, 8.3) ; 1.14, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
32.7	1.63, t (8.3)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
45.3	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
48.8	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
35.6	1.31, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
28.2	1.93, m ; 1.32, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
52.4	1.59, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
18.0	0.98, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
29.8	0.60, d (3.9) ; 0.37, d (3.9)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
37.2	1.42, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
18.3	0.84, d (6.6)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
34.4	2.09, m ; 1.71, m																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
120.9	5.16, t (7.5)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
141.4	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
37.0	2.24, sep (6.9)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
21.6 or 21.6	0.99, d (6.9)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
21.6 or 21.6	0.99, d (6.9)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
13.5	1.55, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
25.5	0.90, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
15.3	0.98, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
19.3	0.91, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
167.1	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
116.3	6.30, d (15.9)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
144.3	7.60, d (15.9)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
127.1	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
109.2	7.05, d (1.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
146.7	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
147.8	-																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
114.6	6.92, d (8.4)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
123.1	7.08, dd (8.4, 1.8)																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
56.0	3.94, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
-	5.83, s																																																																																																																																																																																																																																																																																																														

Fig. 2 24MCA-FA, R<sub>CB</sub>-FA, R<sub>CS</sub>-FA の <sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C NMR スペクトルの帰属結果

Table 1. ごめ油および加工食品中の各 OZ 分子種の濃度および組成比

試料名	濃度						
	CA-FA	24MCA-FA	CB-FA	CS-FA	Camp-FA	Sito-FA	OZ総量
	mg/g ごめ油						
ごめ油 (a)	0.27 ± 0.02 (24.23 ± 0.25)	0.04 ± 0.01 (3.82 ± 0.67)	0.23 ± 0.01 (20.41 ± 0.44)	0.22 ± 0.01 (20.35 ± 0.27)	0.19 ± 0.01 (17.48 ± 0.50)	0.15 ± 0.01 (13.71 ± 0.47)	1.11 ± 0.05 (100)
ごめ油 (b)	2.50 ± 0.09 (25.15 ± 0.90)	0.41 ± 0.04 (4.11 ± 0.33)	1.94 ± 0.10 (19.55 ± 0.76)	1.90 ± 0.07 (19.07 ± 0.28)	1.87 ± 0.06 (18.81 ± 0.54)	1.32 ± 0.10 (13.31 ± 0.73)	9.95 ± 0.26 (100)
ごめ油 (c)	0.20 ± 0.01 (18.85 ± 0.69)	0.04 ± 0.01 (4.14 ± 0.37)	0.25 ± 0.01 (23.52 ± 0.34)	0.24 ± 0.01 (22.22 ± 0.27)	0.19 ± 0.01 (17.47 ± 0.25)	0.15 ± 0.01 (13.79 ± 0.40)	1.06 ± 0.04 (100)
ごめ油 (d)	0.21 ± 0.02 (18.88 ± 0.87)	0.05 ± 0.01 (4.80 ± 0.51)	0.25 ± 0.01 (22.75 ± 0.50)	0.25 ± 0.01 (22.50 ± 0.71)	0.20 ± 0.01 (17.51 ± 0.06)	0.15 ± 0.01 (13.56 ± 0.70)	1.12 ± 0.04 (100)
ごめ油 (e)	0.13 ± 0.01 (23.29 ± 0.77)	0.03 ± 0.01 (5.85 ± 0.39)	0.12 ± 0.01 (21.13 ± 0.19)	0.11 ± 0.01 (20.30 ± 0.63)	0.09 ± 0.01 (16.63 ± 0.45)	0.07 ± 0.01 (12.80 ± 0.31)	0.55 ± 0.01 (100)
ごめ油 (f)	0.34 ± 0.01 (17.15 ± 0.40)	0.09 ± 0.01 (4.59 ± 0.12)	0.58 ± 0.02 (29.34 ± 0.62)	0.47 ± 0.03 (24.02 ± 0.36)	0.29 ± 0.02 (14.50 ± 0.30)	0.21 ± 0.02 (10.40 ± 0.19)	1.97 ± 0.09 (100)
mg/g 脂質							
ポテトチップス	0.55 ± 0.02 (28.51 ± 0.35)	0.18 ± 0.01 (9.12 ± 0.02)	0.39 ± 0.02 (20.13 ± 0.51)	0.27 ± 0.01 (14.11 ± 0.24)	0.29 ± 0.01 (14.99 ± 0.48)	0.25 ± 0.01 (13.13 ± 0.16)	1.93 ± 0.06 (100)
米菓	0.19 ± 0.01 (20.91 ± 0.92)	0.04 ± 0.01 (4.01 ± 0.50)	0.21 ± 0.01 (22.98 ± 0.67)	0.21 ± 0.01 (23.12 ± 0.31)	0.14 ± 0.01 (15.21 ± 0.63)	0.13 ± 0.01 (13.78 ± 0.20)	0.92 ± 0.01 (100)

n = 3, mean ± SD

括弧内はOZ総量あたりの各分子種の割合を示す (%).

## 第二節 こめ油中の $\gamma$ -オリザノール分子種の汎用的な分析法の開発

【背景・目的】玄米やこめ油の生理作用についてその機能本体を OZ と推定する報告はある [20, 21] が、これらの研究では OZ 分子種の総量を測定し評価するに留まっている。OZ が分子種ごとに特有の機能を有することが明らかになりつつある中で [8, 9]、食品に含まれる OZ の機能性を評価するには、含量だけでなく分子種組成を評価し得る分析法が必要である。第一節では HPLC-UV-MS を使用し、MS 検出にてこめ油および加工食品の脂質中の OZ 分子種を分析した際に、UV でも OZ 分子種を検出できしており、一部重層している分子種の分離を改善することができれば、UV 検出器による各 OZ 分子種の分析が可能であることを見出した (Fig. 3)。そこで、本節ではより汎用的な UV 検出器によるこめ油中の OZ 分子種の定量分析法を確立することを目的とした。他方、こめ油に特有の OZ 分子種である CB-FA および CS-FA は、24MCA-FA から生成することが推定されている (Fig. 1) が検証はされていない。そこで、確立した OZ 分子種分析法を用いて、生成メカニズムの解明を試みた。

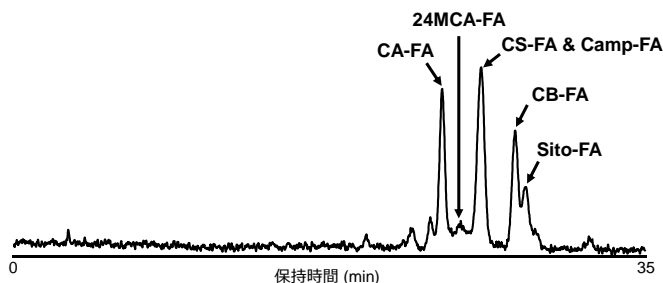


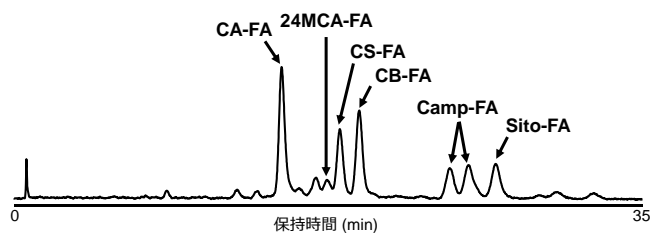
Fig.3 HPLC-UV-MS を用いて分析したこめ油の UV<sub>320</sub> クロマトグラム

【方法】320 nm の波長で UV 検出した場合、こめ油中の 6 種の OZ 分子種を分離可能なカラム、移動相条件、カラムオープン温度を検討した。本法のバリデーション

(LOD, LLOQ, Intra-day RSD, Inter-day RSD, Intra-day accuracy, Inter-day accuracy, Linear range, Matrix effect) は、マトリックスにトリオレインを用いて実施中である。CB-FA および CS-FA の生成メカニズムの検証として、ステロールである 24-メチレンシクロアルタニルを酸処理して異性化させた文献 [12] の条件を参考にして、10 mM 24MCA-FA の IPA 溶液に、24MCA-FA に対し 2.5 当量の硫酸を添加し 22 時間還流加熱した。反応溶液を経時的にサンプリングし、本法を用いて生成物のタイムコースを評価した。さらに、国内外の各種メーカーのこめ油 10 種を測定し、製造工程が OZ 分子種の組成比に及ぼす影響を考察しようとしている。

【結果・考察】SunShell C30 カラム、アセトニトリル/1-ブタノール/酢酸 = 82/3/0.1 (v/v/v) 移動相、カラムオープン温度 29°C の条件にて、UV<sub>320</sub> 検出においてこめ油中の 6 種の OZ 分子種を分離して検出できた (Fig. 4)。なお、本分析条件では Camp-FA のジアステレオマー [22] も分離された。これまで OZ の分析は分光光度計を用いて、分子種の総量を算出するに留まっていた [23] が、汎用的な機器である UV 検出を用いた

本 OZ 分子種測定法は、米糠の OZ 分子種のみならずこめ油中の OZ 分子種の分析も可能とした。続いて、24MCA-FA の酸処理では時間経過とともに 24MCA-FA が減少し、CB-FA および CS-FA が生成したことから、24MCA-FA は酸の存在下で CB-FA および CS-FA に異性化することが示された。



**Fig.4 SunShell C30 を用いて設定した移動相組成にて分析したこめ油の UV<sub>320</sub> クロマトグラム**



## 第二章 穀物中のトリテルペンアルコール型フェノール酸エステル体の解析

【背景・目的】コメの OZ は CA-FA や 24MCA-FA に代表される「トリテルペンアルコール型フェルラ酸エステル (TTA-FA)」と Camp-FA や Sito-FA に代表される「植物ステロール型フェルラ酸エステル (PS-FA)」に大別される (Fig. 1). コメ以外の穀物にも OZ 分子種は含まれているが, TTA-FA はコメ特有であるとされていた [14, 15]. しかし, 最近の研究で, 大麦中には TTA-FA である 24MCA-FA が存在することが HPLC-UV [16] や MS [17] による検出で示唆されているが, 化学構造のデータは示されていない. また, 第一章でこめ油に見出された CB-FA および CS-FA が, 他の穀物にも存在するのかを検証した例は無く, さらに, OZ 分子種と類似構造の化合物 (例えば, フェルラ酸以外のフェノール酸エステル体, 等) が存在するかといった知見はほとんどない. そこで本章では, 入手可能な穀物素材についてこめ油中の OZ 分子種および OZ 分子種と類似構造の化合物が含まれるか解析した.

【方法】市販のコーン油と小麦粉および大麦粉のヘキサン抽出物を第一章で開発した HPLC-UV-MS 分析に供し, UV および MS クロマトグラムをこめ油のものと比較した. 大麦について詳細に解析するために, 大麦糠のヘキサン抽出物を原料として, 溶媒抽出, フラッシュクロマトグラフィー, HPLC-UV による精製を行い, 得られた OZ 分子種推定画分を NMR および HPLC-UV-MS (IT-TOF) を用いて測定した. 続いて, 8 品種の原麦と搗精麦について, クロロホルム-メタノール混合溶媒によって脂質を抽出し, 液液抽出と固相抽出にて精製した試料を HPLC-MS/MS に供した.

【結果・考察】コーン油および小麦粉では, こめ油の OZ 分子種の溶出位置にピークはほとんど検出されなかったが, 大麦粉には, TTA-FA の溶出位置にピークが複数検出された (Fig. 5). また, こめ油の OZ 分子種を検出する Extracted ion chromatogram (XIC) を大麦粉で表示させると, 24MCA-FA と CA-FA の溶出位置付近にそれぞれの

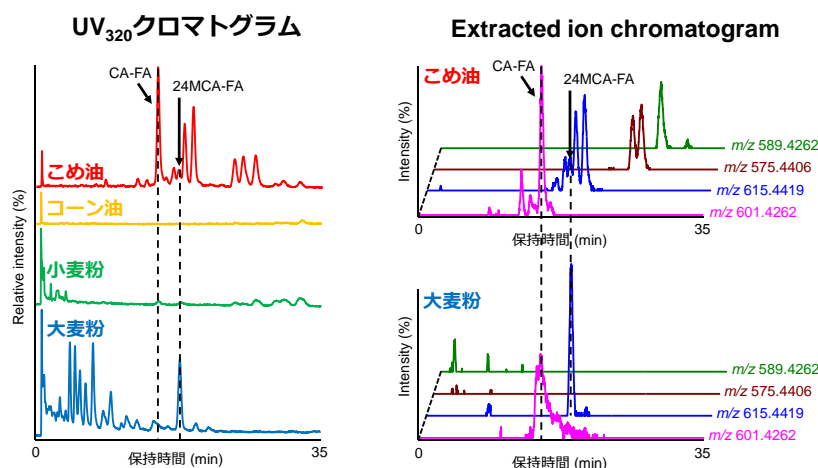


Fig.5 こめ油と穀物試料の UV および MS クロマトグラムの比較

脱プロトン分子イオンと同じ  $m/z$  のイオンが検出された（以下、 $B_{24MCA-FA}$  と  $B_{CA-FA}$ ）（Fig. 5）．大麦糠から調製した  $B_{24MCA-FA}$  と  $B_{CA-FA}$  を NMR によって解析すると、 $B_{24MCA-FA}$  は 24MCA-FA であり、 $B_{CA-FA}$  は TTA-FA ではなく、カフェ酸と 24-メチレンシクロアルタノールのエステル体（24MCA-CA）であることが明らかとなった（Fig. 6） [18]．24MCA-CA はイネ科のカナリークサヨシの種子に含まれることが報告されていた化合物であり [24]，本研究で初めて詳細な化学構造を明らかにした．第一章で設定した OZ 分子種分析条件では、24MCA-CA のピークがブロードになったため、新たに HPLC-MS/MS による分析条件を設定した、本法にて、8 品種の原麦と搗精麦を分析すると、すべての品種に 24MCA-FA と 24MCA-CA は存在した（Fig. 7）．24MCA-FA および 24MCA-CA の含量は、搗精麦よりも原麦に多かったことから、これらの化合物は糠部分に存在すると推察された．以上の結果より、これまでコメに特有と考えられていた TTA-FA が大麦にも存在し、さらに、大麦では報告の無かった 24MCA-CA が存在することを構造情報を持って示した．一方、24MCA-FA および 24MCA-CA の吸収・代謝についてはほとんど明らかになっていないが、OZ の一部は体内でステロールとフェルラ酸に分解される [25]．24MCA-FA および 24MCA-CA が分子構造内に有する TTA は PS とは異なる機能を示す可能性が示唆されており [26]，これらの化合物は TTA の供給源としての可能性も期待される．

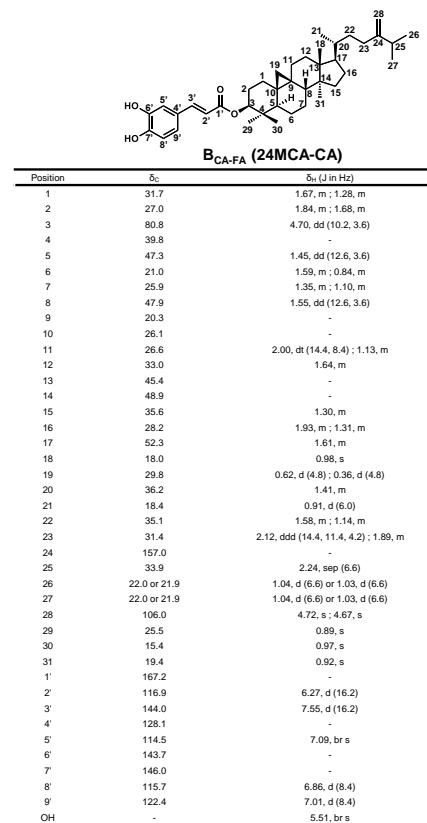


Fig.6  $B_{CA-FA}$  の  $^1H$  および  $^{13}C$  NMR 測定結果

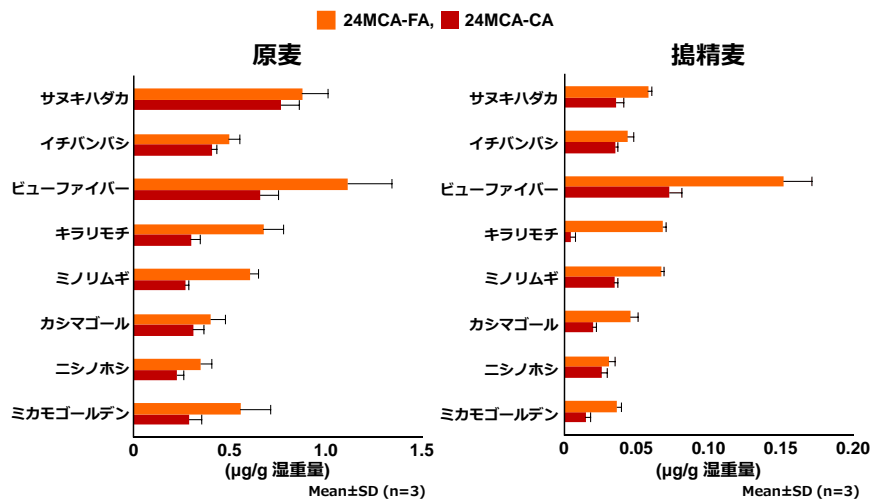


Fig.7 各大麦品種における 24MCA-FA および 24MCA-CA の含量

## 総括

本研究では、食品に含まれる OZ に着目し、特にこめ油に含まれる OZ 分子種についてその構造解析と、分子種分析法の開発を目的とした。また、コメ以外の穀物について、こめ油の OZ を構成する分子種および構造の類似した化合物の存在の検証を目的として種々の穀物試料の測定を行った。

第一章では、こめ油において、こめ油の原料である米糠には存在しない 2 つの OZ 分子種と推定される化合物の構造解析に取り組んだ。これらの化合物は、米糠の OZ の主要分子種である 24MCA-FA の異性体であると推定され、24MCA-FA の構造情報を元に構造解析を試みた。まず、米糠由来の OZ から 24MCA-FA を単離して、HPLC-UV-MS (IT-TOF) 測定、NMR 測定、X 線結晶構造解析を行うことで、完全に 24MCA-FA の化学構造を決定した [18]。続いて、こめ油から 2 つの OZ 推定物を単離し、NMR を測定することで、それらが CB-FA と CS-FA であることを明らかにした [25]。さらに、市販のこめ油 6 種類およびこめ油を使用した加工食品中の OZ 分子種を分析し、米糠の OZ4 分子種に加えて、主要な分子種として CB-FA および CS-FA が含まれていることを見出した [19]。次に、こめ油に含まれる OZ 分子種の分析方法として、HPLC-UV 法の構築に取り組んだ。本法を用いて、24MCA-FA を硫酸処理した試料を測定し、24MCA-FA は酸存在下で CB-FA と CS-FA に異性化することを明らかにした。

第二章では、第一章で開発した分析法を用いて、コーン油、小麦粉、大麦粉を測定し、大麦粉中にコメに特有とされてきた TTA-FA と TTA-FA に類似の構造をもつ化合物が存在することを見出した。続いて、大麦糠からこれら 2 つの化合物を単離し、HPLC-UV-MS (IT-TOF) および NMR を用いた解析によって、それらが TTA-FA の 24MCA-FA と、カフェ酸と 24-メチレンシクロアルタノールのエステル体の 24MCA-CA であることを明らかにした [18]。さらに、HPLC-MS/MS を用いて 8 品種の大麦を測定し、これらすべてに 24MCA-FA と 24MCA-CA が含まれていることを見出した。

本研究によって、こめ油および大麦に含まれる OZ 分子種および構造が類似した化合物の化学構造を明らかにし、我々は食事の中でこれらを摂取している可能性を示した。これまでに OZ は日本では医薬品原料や食品添加物として用いられていたが、機能性表示制度において食品に含まれる OZ に関する議論が進み、その利用について注目が高まっている [27]。そのような潮流の中で、本研究は各 OZ 分子種の化学構造と生理活性との関係性を明らかにする研究の推進にも大きく貢献できると期待される。また、汎用的な機器である UV 検出を用いた OZ 分子種測定法は、米糠の OZ 分子種のみならずこめ油中の OZ 分子種の定量も可能であることから、今後、食品産業においても食品中の OZ を分子種レベルで制御した商品設計ができる可能性が示された。

## 引用文献

- [1] Kaneko R., Tsuchiya T., New compound in rice bran and germ oils. *Journal of the Chemical Society of Japan*, 57(7), 526 (1954).
- [2] Okada T., Yamaguchi N., Antioxidative effect and pharmacology of oryzanol. *Yukagaku*, 33(6), 305–310 (1983).
- [3] Lerma-García M. J., Herrero-Martínez J. M., Simó-Alfonso E. F., Mendonça C.R.B., Ramis-Ramos G., Composition, industrial processing and applications of rice bran  $\gamma$ -oryzanol. *Food Chemistry*, 115(2), 389–404 (2009).
- [4] Wilson T. A., Nicolosi R. J., Woolfrey B. Kritchevsky D., Rice bran oil and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol ester accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 18(2), 105–112 (2007).
- [5] Minatel I. O., Francisqueti F. V., Corrêa C. R., Lima G. P. P., Antioxidant activity of  $\gamma$ -oryzanol: A complex network of interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8), 1107 (2016).
- [6] Wang O., Liu J., Cheng Q., Guo X., Wang Y., Zhao L., Zhou F., Ji B., Effects of ferulic acid and  $\gamma$ -oryzanol on high-fat and high-fructose diet-induced metabolic syndrome in rats. *PLoS ONE*, 10(2): e0118135 (2015).
- [7] Kozuka C., Yabiku K., Sunagawa S., Ueda R., Taira S., Ohshiro H., Ikema T., Yamakawa K., Higa M., Tanaka H., Takayama C., Matsushita M., Oyadomari S., Shimabukuro M., Masuzaki H., Brown rice and its component,  $\gamma$ -oryzanol, attenuate the preference for high-fat diet by decreasing hypothalamic endoplasmic reticulum stress in mice. *Diabetes*, 61(12), 3084–3093 (2012).
- [8] Kim H. W., Lim E. J., Jang H. H., Cui X. L., Kang D. R., Lee S. H., Kim H. R., Choe J. S., Yang Y. M., Kim J. B., Park, J. H., 24-Methylenecycloartanyl ferulate, a major compound of  $\gamma$ -oryzanol, promotes parvin-beta expression through an interaction with peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 in human breast cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 468(4), 574–579 (2015).
- [9] Islam M. S., Yoshida H., Matsuki N., Ono K., Nagasaka R., Ushio H., Guo Y., Hiramatsu T., Hosoya T., Murata T., Hori M., Ozaki H., Antioxidant, free radical-scavenging, and NF- $\kappa$ B-inhibitory activities of phytosteryl ferulates: Structure–activity studies. *Journal of Pharmacological Sciences*, 111(4), 328–337 (2009).
- [10] Kobayashi E., Ito J., Kato S., Sawada K., Matsuki M., Hashimoto H., Miyazawa T., Nakagawa K., Presence of orally administered rice bran oil  $\gamma$ -oryzanol in its intact form in mouse plasma. *Food & Function*, 7(12), 4816–4822 (2016).
- [11] Kobayashi E., Ito J., Shimizu N., Kokumai T., Kato S., Sawada K., Hashimoto H., Eitsuka

- T., Miyazawa T., Nakagawa K., Evaluation of  $\gamma$ -oryzanol accumulation and lipid metabolism in the body of mice following long-term administration of  $\gamma$ -oryzanol. *Nutrients*, 11(1), 104–114 (2019).
- [12] Shimizu N., Itoh T., Ichinohe Y., Matsumoto T., Cyclosadol, isocyclosadol, and other related triterpene alcohols obtained from 24-methylenecycloartanol by acid-catalyzed isomerization. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 57(5), 1425–1426 (1984).
- [13] Rahmania H., Kato S., Sawada K., Hayashi C., Hashimoto H., Nakajima S., Otoki Y., Ito J., Nakagawa K., Revealing the thermal oxidation stability and its mechanism of rice bran oil. *Scientific Reports*, 10, 14091 (2020).
- [14] Jiang Y., Wang T., Phytosterols in cereal by-products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(6), 439–444 (2005).
- [15] Norton R. A., Quantitation of steryl ferulate and *p*-coumarate esters from corn and rice. *Lipids*, 30(3), 269–274 (1995).
- [16] Lee Y. J., Jang G. Y., Li M., Kim M. Y., Kim E. H., Lee M. J., Lee J., Jeong H. S., Changes in the functional components of barley produced from different cultivars and germination periods. *Cereal Chemistry*, 94(6), 978–983 (2017).
- [17] Tsuzuki W., Komba S., Kotake-Nara E., Aoyagi M., Mogushi H., Kawahara S., Horigane A., The unique compositions of steryl ferulates in foxtail millet, barnyard millet and naked barley. *Journal of Cereal Science*, 81, 153–160 (2018).
- [18] Ito J., Sawada K., Ogura Y., Xinyi F., Rahmania H., Mohri T., Kohyama N., Kwon E., Eitsuka T., Hashimoto H., Kuwahara S., Miyazawa T., Nakagawa K., Definitive evidence of the presence of 24-methylenecycloartanyl ferulate and 24-methylenecycloartanyl caffeate in barley. *Scientific Reports*, 9, 12572 (2019).
- [19] Sawada K., Nakagami T., Rahmania H., Matsuki M., Ito J., Mohri T., Ogura Y., Kuwahara S., Hashimoto H., Nakagawa K., Isolation and structural elucidation of unique  $\gamma$ -oryzanol species in rice bran oil. *Food Chemistry*, 337, 127956 (2021).
- [20] Cicero A. F. G., Gaddi A., Rice bran oil and  $\gamma$ -oryzanol in the treatment of hyperlipoproteinaemias and other conditions. *Phytotherapy Research*, 15(4), 277–289 (2001).
- [21] Shimabukuro M., Higa M., Kinjo R., Yamakawa K., Tanaka H., Kozuka C., Yabiku K., Taira S., Sata M., Masuzaki H., Effects of the brown rice diet on visceral obesity and endothelial function: the BRAVO study. *British Journal of Nutrition*, 111(2), 310–320 (2014).
- [22] Bao Y., Yanase E., Nakatsuka S., Isolation of campesteryl ferulate and epi-campesteryl ferulate, two components of  $\gamma$ -oryzanol from rice bran. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(4), 877–879 (2013).
- [23] CODEX ALIMENTARIUS, Standard for named vegetable oils, CODEX STAN 210-1999.
- [24] Takagi T., Iida T., Antioxidant for fats and oils from canary seed: Sterol and triterpene alcohol

esters of caffeic acid. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 57, 326–330 (1980).

[25] Fujiwara S., Sakurai S., Noumi K., Sugimoto I., Awata, N., Metabolism of  $\gamma$ -oryzanol in rabbit. *Yakugaku Zasshi*, 100(10), 1011–1018 (1980).

[26] Fukuoka D., Okahara F., Hashizume K., Yanagawa K., Osaki N., Shimotoyodome A., Triterpene alcohols and sterols from rice bran lower postprandial glucose-dependent insulinotropic polypeptide release and prevent diet-induced obesity in mice. *Journal of Applied Physiology*, 117(11), 1337–1348 (2014).

[27] 食薬区分運用改善へ「専ら医」成分食品産業にも <http://www.him-news.com/news/view/4359>, 健康産業流通新聞オンライン (2019 年 3 月 21 日) .

